

方药纵横

引用:陈婷,李嘉龙,白蕊,等. 华蟾素对 HepG₂/ADM 细胞耐药的抑制作用及其机制研究[J]. 现代中医药, 2024, 44(1):89-94.

华蟾素对 HepG₂/ADM 细胞耐药的抑制作用及其机制研究^{*}

陈婷¹ 李嘉龙² 白蕊² 史晓燕¹ 段丽芳¹ 李翠娟^{1,3} 范好^{1,3**}

(1. 陕西中医药大学基础医学院, 陕西 咸阳 712046; 2. 陕西中医药大学医学技术学院, 陕西 咸阳 712046; 3. 陕西省中医体制与疾病防治研究重点实验室, 陕西 咸阳 712046)

摘要:目的 观察华蟾素对人肝癌细胞 HepG₂/阿霉素(ADM)耐药性的影响并分析其可能的作用机制。方法 用不同浓度的华蟾素处理 HepG₂ 和 HepG₂/ADM 细胞 24 h, MTT 法检测细胞增殖抑制率, 计算半数抑制浓度(IC₅₀); 倒置显微镜观察细胞形态学变化; 药物蓄积实验检测对细胞内药物累积的影响; Western blot 实验检测凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax、Caspase-9、Caspase-3 表达情况。结果 华蟾素能对 HepG₂ 和 HepG₂/ADM 细胞具有增殖抑制作用, 耐药倍数为 4.67; 随华蟾素处理浓度升高, HepG₂/ADM 细胞体积变小, 细胞皱缩突起减少, 细胞间连接减少; 与耐药组比较, 华蟾素可提高 HepG₂/ADM 细胞对阿霉素的蓄积水平, 上调 Bax、Caspase-9、Caspase-3 蛋白表达($P<0.05$), 下调 Bcl-2 蛋白表达($P<0.01$), 促进细胞凋亡。结论 华蟾素能够显著抑制 HepG₂/ADM 细胞增殖, 增加 ADM 在细胞内的蓄积, 其作用机制可能与调控 Bcl-2/Bax 蛋白表达, 诱导细胞凋亡有关。

关键词: 华蟾素; 多药耐药; 人肝癌细胞 HepG₂/阿霉素; Bcl-2/Bax; 凋亡

中图分类号: R285.5 文献标识码: A

文章编号: 1672-0571(2024)01-0089-06

DOI: 10.13424/j.cnki.mtcm.2024.01.019

Inhibitory Effect and Mechanism of Huachansu on Drug Resistance in HepG2/ADM Cells

CHEN Ting¹ LI Jialong² BAI Rui² SHI Xiaoyan¹ DUAN Lifang¹ LI Cuijuan^{1,3} FAN Yu^{1,3}

(1. School of Basic Medicine, Shaanxi University of Chinese Medicine, Shaanxi Xianyang 712046, China;

2. School of Medical Technology, Shaanxi University of Chinese Medicine, Shaanxi Xianyang 712046, China;

3. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine System and Disease Prevention and Control in Shaanxi Province, Shaanxi Xianyang 712046, China)

Abstract: **Objective** To observe the effect of Huachansu on the drug resistance of human liver cancer cells HepG2/doxorubicin (ADM) and its possible mechanism of action. **Methods** HepG2 and HepG2/ADM cells were treated with different concentrations of bufalin for 24 hours, and the cell proliferation inhibition rate was detected by MTT assay. The half inhibitory concentration (IC₅₀) was calculated; Observing cellular morphological changes under an inverted microscope; The impact of drug accumulation experiments on intracellular drug accumulation; Western blot assay was used to detect the expression of apoptosis related proteins Bcl-2, Bax, Caspase-9, and Caspase-3. **Results** The results showed that Huachansu can inhibit the proliferation of HepG2 and HepG2/ADM cells, with a resistance multiple of 4.67; As the concentration of Huachansu increased, the volume of HepG2/ADM cells decreased, the number of cell wrinkled processes decreased, and the intercellular connections decreased; Compared with the drug resistant group,

^{*} 基金项目: 国家级大学生创新创业项目(202110716011); 陕西中医药大学创新团队项目(2019-YL14); 陕西省科技厅项目(2021JM-472); 陕西省教育厅 2021 年度重点科研计划项目(21JS007)

^{**} 通讯作者: 范好, 教授。E-mail: 806919125@qq.com

Huachansu can increase the accumulation level of doxorubicin in HepG2/ADM cells, upregulate the expression of Bax, Caspase-9, and Caspase-3 proteins ($P < 0.05$), and downregulate the expression of Bcl-2 protein ($P < 0.01$), promoting cell apoptosis. **Conclusion** Huachansu can significantly inhibit the proliferation of HepG2/ADM cells, increase the accumulation of ADM in cells, and its mechanism of action may be related to regulating the expression of Bcl-2/Bax protein and inducing cell apoptosis.

Key words: Huachansu; Multidrug resistance; Human liver cancer cells HepG2/doxorubicin; Bcl-2/Bax; Apoptosis

肝癌是消化系统常见的恶性肿瘤之一, 发病率和死亡率均位居癌症前列^[1-3]。当前临床多采用手术、化疗、中药及联合疗法等治疗方式。由于多数患者发病隐匿, 发现时多已是中后期, 使得治疗选择受限, 化疗成为肝癌患者治疗的主要手段^[4]。对化疗药物产生多药耐药 (multidrug resistance, MDR) 是化疗中常见的棘手现象, 极大程度降低了化疗药物治疗效果^[5]。近年来, 多药耐药性成为临床肝癌治疗中亟待解决的问题^[6-9]。有研究发现, 多数化疗药物可以通过诱发肿瘤细胞凋亡发挥抑癌的作用, 而肿瘤细胞对化疗药物的抗凋亡作用则是诱发 MDR 的重要机制之一^[10-11]。

华蟾素是由干蟾皮通过水提醇沉法获得的中成药制剂, 广泛应用于肝癌^[12-15]、肺癌^[16-18]、乳腺癌等多种恶性肿瘤^[19-21]的临床治疗中, 疗效显著。有研究显示, 华蟾素及其有效成分可通过激活线粒体凋亡途径诱发大脑胶质瘤^[22]、淋巴瘤等^[23]恶性肿瘤细胞凋亡。华蟾素还可以提高肺癌细胞对化疗药物的敏感性^[24], 但目前关于华蟾素对肝癌化疗中耐药作用及其作用机制的研究却鲜有报道。本研究以人肝癌 HepG₂ 细胞和阿霉素耐药细胞株 HepG₂/ADM 为研究对象, 从对细胞增殖的影响、细胞内阿霉素积累和凋亡相关蛋白的表达等方面深入探究华蟾素逆转 HepG₂/ADM 细胞耐药的机制, 旨在为华蟾素的临床应用提供可靠的理论依据。

1 材料

1.1 细胞 人肝癌 HepG₂ 由陕西中医药大学晁旭教授惠赠, HepG₂/ADM 细胞购自广州吉妮欧生物有限公司 (批号: 20220723)。

1.2 药物与试剂 将华蟾素胶囊 (陕西东泰制药有限公司, 批号: 1K0907151) 溶于 DMSO 溶液 (DMSO 终浓度 $< 0.1\%$); 以 DMEM 基础培养基稀释为相应质量浓度应用于实验, 即用即配^[25]; 阿霉

素购于深圳万乐药业有限公司 (批号: 2110E2); 青霉素链霉素混合液 (货号 P1400), 胰蛋白酶 (货号: T1300), 噻唑兰 (货号: 1334MG250) 购自北京 Solarbio 公司; 胎牛血清 (货号: FSP500) 购自依科赛生物公司; DMEM 培养基 (货号 XT-SH30022, 01B) 购于美国 hyclone 公司; Caspase-3 一抗 (货号: 19677-1-AP) 购于美国 Proteintech 公司; Caspase-9 一抗 (货号: 9508S) 购于美国 Cell Signaling Technology; BAX 一抗 (货号: sc-20067)、Bcl-2 一抗 (货号: sc-56015) 购于美国 santa cruz 公司; β -actin 一抗 (货号: bs-0061R)、羊抗兔 HRP 标记二抗 (货号: BA1135)、羊抗小鼠 HRP 标记二抗 (货号: BA1050) 购自购自武汉博士德生物科技有限公司。

1.3 仪器 高速低温离心机 (Eppendorf 5430R); 超低温冰箱 (Thermo Scientific Forma 702); 分析天平 (中国 Mettler Toledo); 制冰机 (宁波 Grant XB100); 涡旋混合器 (美国 Scientific Industries); 水平摇床 (海门 Kylin-Bell BETS-M5); 蛋白印迹电泳系统 (美国 Bio-Rad); 凝胶成像系统 (Protein Simple FluorChemFC3); 超净工作台 (苏州净化设备); 超纯水器 (美国 Millipore); 细胞培养箱 (美国 Nuair NU-4950E); 倒置显微镜 (日本 Olympus)。

2 实验方法

2.1 细胞培养 HepG₂ 细胞于含 12% 胎牛血清和 1% 双抗的 DMEM 培养基中培养; HepG₂/ADM 细胞接种于加入 $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 阿霉素的 HepG₂ 细胞培养基中, 维持细胞的耐药特性^[26]。细胞均置于 37°C 、5% CO_2 恒温恒湿培养箱中孵育, 在对数生长期进行后续实验。

2.2 华蟾素对 HepG₂、HepG₂/ADM 细胞增殖的影响 分别制备密度为 1×10^5 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的 HepG₂、HepG₂/ADM 细胞悬液, 以 $100 \mu\text{L}$ /孔接种于 96 孔板。待细胞贴壁后, 给予 HepG₂ 细胞含有 0、0.125、0.25、0.5、1、2、4、8、10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 华蟾素干

预;给予 HepG₂/ADM 细胞含有 0、1、2、4、8、16、32 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 华蟾素干预;继续培养 24 h 后,加入 20 μL /孔 MTT 溶液,避光孵育 4 h,弃去液体后加入 150 μL /孔 DMSO,室温震荡 10 min,紫色结晶完全溶解后,全自动酶标仪在 490 nm 处测定吸光度(OD)值,计算细胞增殖抑制率 = $(1 - \text{华蟾素组 OD 值} / \text{空白对照组 OD 值}) \times 100\%$;计算华蟾素对两种细胞的半数抑制率(IC_{50})及药物的耐药倍数,耐药倍数 = $\text{IC}_{50} \text{ 耐药株} / \text{IC}_{50} \text{ 敏感株}^{[27]}$ 。每组 6 个复孔,重复测定 3 次。

2.3 倒置显微镜观察 HepG₂/ADM 细胞形态学变化 将密度为 $1 \times 10^5 \text{ 个} \cdot \text{mL}^{-1}$ HepG₂/ADM 细胞悬液接种于 96 孔板,100 μL /孔。待细胞贴壁后分别加入 0、4、8、16 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 华蟾素溶液,继续培养 24 h,倒置显微镜下观察细胞形态变化。

2.4 药物蓄积实验 把实验分为 HepG₂ 组、HepG₂/ADM 组、不同浓度华蟾素组。分别将密度为 $1 \times 10^4 \text{ 个} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 HepG₂ 细胞和 HepG₂/ADM 细胞,接种于 24 孔板内,孵育 24 h 后,HepG₂ 组、HepG₂/ADM 组加入基础培养基,不同浓度华蟾素组分别加入含 4、8、16 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 华蟾素的基础培养基。继续培养 24 h 后,除 HepG₂ 组外,其余各组均加入含 5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 阿霉素的培养基,孵育 4 h,4% 多聚甲醛避光固定 35 min 后加入 DAPI 染液室温避光放置 5 min,抗荧光淬灭封片剂封片,避光存放。荧光显微镜下观察并拍照。细胞核呈紫蓝色荧光,阿霉素自发红色荧光。采用 ImageJ6.0 软件计算细胞阿霉素荧光强度值。

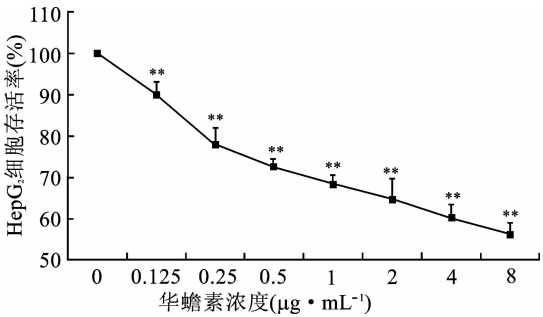
2.5 Western blot 实验检测凋亡相关蛋白的表达 分组及处理方法同 2.4,收集细胞,提取总蛋白,BCA 法定量蛋白浓度,制备上样蛋白,经电泳分离、转膜、封闭后,分别加入 Bcl-2 抗体(1 : 1500)、Bax 抗体(1 : 1000)、Caspase-9 抗体(1 : 1000)、Caspase-3 抗体(1 : 1000)、 β -actin 抗体(1 : 1000),4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜;室温孵育二抗,凝胶成像仪显影。应用 Image J6.0 软件分析蛋白条带灰度值。

2.6 统计学方法 应用 SPSS22.0 软件对数据进行统计学处理,部分实验数据以均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)反映,两组数据间比较用 t 检验,多组差异比较用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 有显著统计学意义。

3 结果

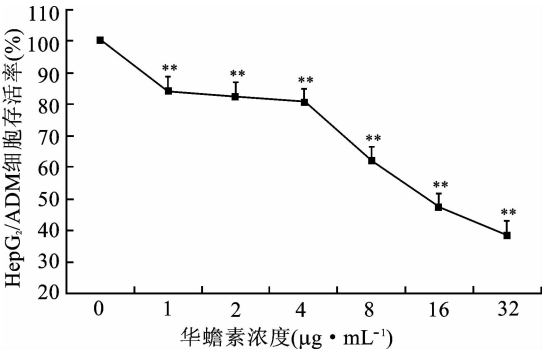
3.1 华蟾素抑制 HepG₂、HepG₂/ADM 细胞增

殖 与空白组比较,华蟾素在 0.125 至 10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度范围能够抑制 HepG₂ 细胞增殖,统计学差异显著($P < 0.01$), IC_{50} 为 $(11.27 \pm 1.15) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$;华蟾素在 1 至 32 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度范围能够抑制 HepG₂/ADM 细胞增殖($P < 0.01$), IC_{50} 为 $(52.60 \pm 11.04) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。华蟾素对两种细胞的增殖抑制作用均具有剂量依赖性。耐药倍数为 4.67。根据华蟾素对 HepG₂/ADM 细胞的增殖抑制情况,选取 4、8、16 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 作为后续处理剂量。结果见图 1、2。



注:与空白对照组相比 ** $P < 0.01$

图 1 华蟾素对 HepG₂ 细胞增殖抑制的影响



注:与空白对照组相比 ** $P < 0.01$

图 2 华蟾素对 HepG₂/ADM 细胞增殖抑制的影响

3.2 华蟾素对 HepG₂/ADM 细胞形态学变化影响

倒置显微镜下观察华蟾素对 HepG₂/ADM 细胞形态的影响,结果显示,HepG₂/ADM 细胞形态清晰,有明显突起,贴壁牢固。经华蟾素干预 24 h 后,随着药物浓度的增加,细胞数量减少,体积变小,细胞皱缩突起减少,贴壁松散,细胞间连接减少。见图 3。

3.3 华蟾素对 HepG₂/ADM 细胞药物蓄积的影响

与 HepG₂ 细胞组比较,HepG₂/ADM 细胞中 ADM 的含量无显著差异($P > 0.05$)。与 HepG₂/ADM 细胞比较,华蟾素处理组细胞中 ADM 的含量显著增加,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结果见图 4。

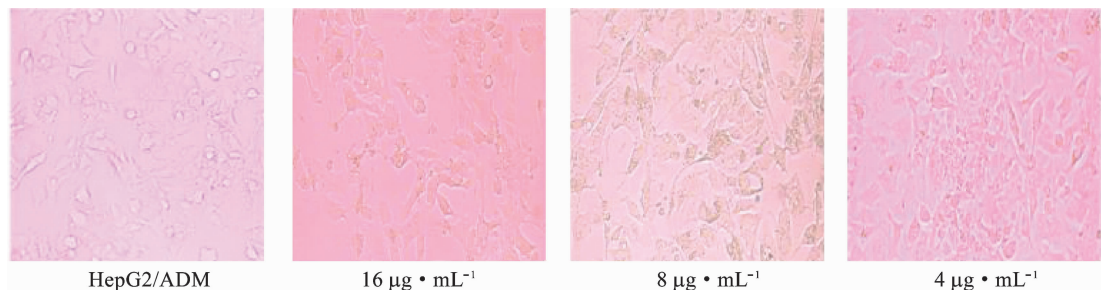
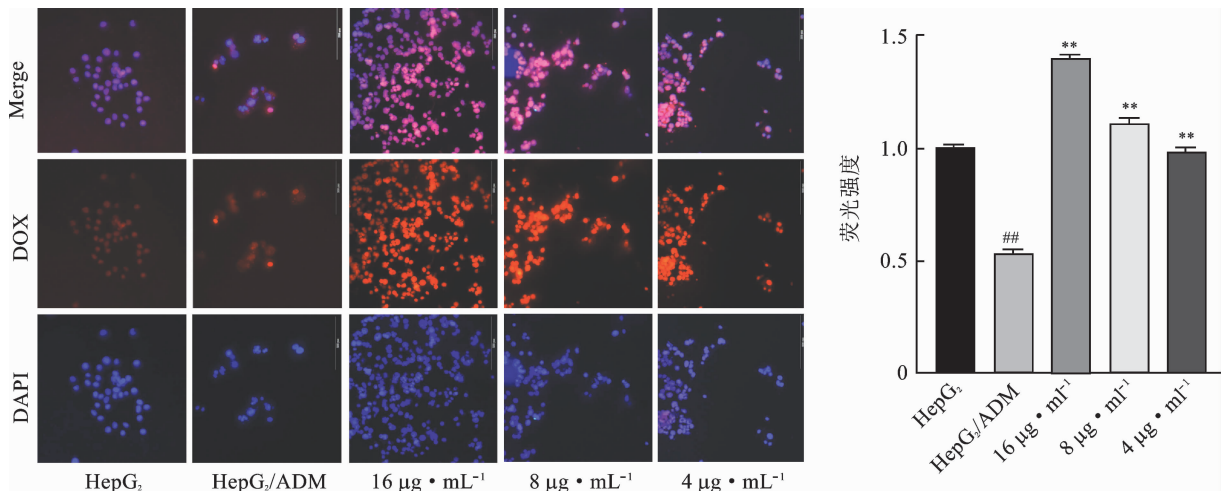


图 3 华蟾素对 HepG₂/ADM 细胞形态学变化影响(×200)

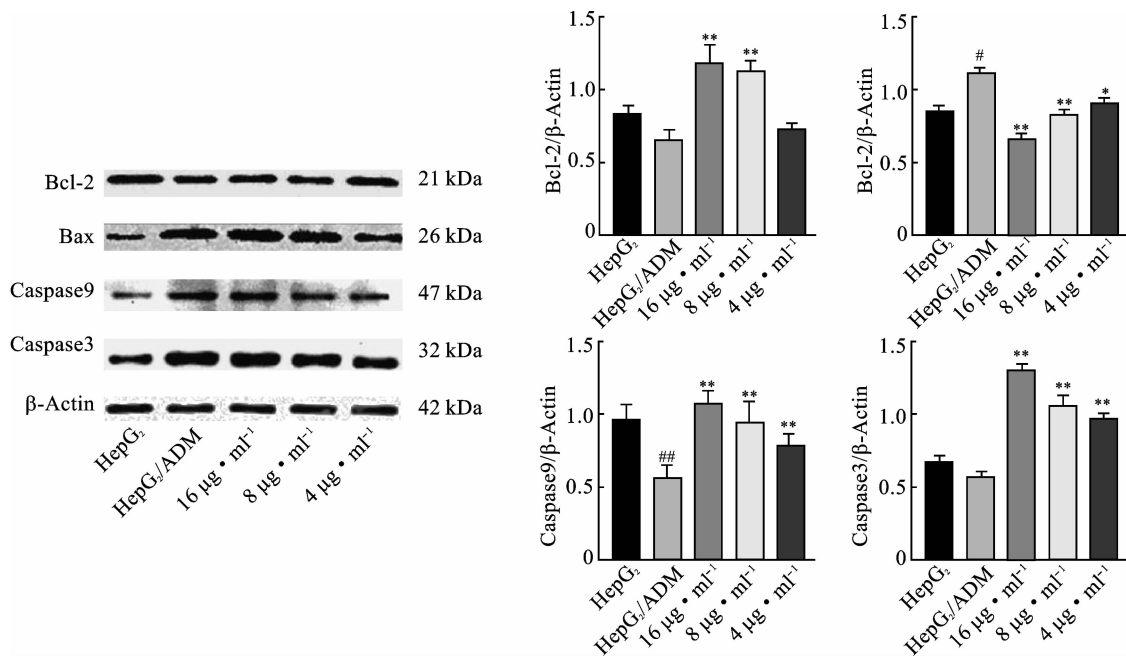


注:与 HepG₂ 组相比与^{##} $P<0.01$;与 HepG₂/ADM 组相比^{**} $P<0.01$

图 4 华蟾素对 HepG₂/ADM 细胞 ADM 蓄积的影响(×400, $n>3$)

3.4 华蟾素对 HepG₂/ADM 细胞凋亡相关蛋白表达的影响 与 HepG₂ 细胞组比较,HepG₂/ADM 细胞中 Bcl-2 蛋白表达显著升高,Caspase e-9 蛋白表达下降($P<0.05$),Bax 及 Caspase-3 蛋白表达无显

著变化($P>0.01$);与 HepG₂/ADM 细胞比较,华蟾素处理组 Bax、Capase-9 及 Caspase-3 蛋白表达水平显著升高,Bcl-2 蛋白表达水平降低,差异具有统计学意义($P<0.01$)。结果见图 5。



注:与 HepG₂ 组相比与[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$;与 HepG₂/ADM 组相比^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$

图 5 华蟾素对 HepG₂/ADM 细胞凋亡相关蛋白表达的影响($n>3$)

4 讨论

全球范围内,肿瘤疾病已经成为人类重大的公共健康问题之一,在我国肝癌的发病率和死亡率均位居消化系统恶性肿瘤前列^[1]。目前临床治疗主要以手术、化疗、放疗、中药及联合治疗等,由于肝癌发病隐匿,多数患者失去了手术机会,因此化疗成为多数肝癌患者采用的主要治疗方案,化疗药物易发生多药耐药,使患者对药物敏感性下降,成为致使化疗疗效不尽如人意的主要原因之一^[9]。

中医药是中华文明的瑰宝,来源于天然动植物药物显示出良好的抗癌功效。中药复方、中药注射液、中药单体在逆转肝癌化疗耐药方面机制研究也日益增加。华蟾素是从蟾蜍中提取分离出的主要活性成分,具有抗炎、镇痛及抗肿瘤等多种功效,对包括肝癌、直肠癌、肺癌、乳腺癌等肿瘤细胞具有明显的杀伤作用^[24]。

本实验研究中,我们选用 HepG₂ 细胞作为对照,以 HepG₂/ADM 细胞株作为研究对象。MTT 实验结果显示,华蟾素对 HepG₂ 和 HepG₂/ADM 细胞具有显著的增殖抑制作用,且具有明显的剂量依赖性;倒置显微镜下观察发现,经华蟾素处理度干预后,随着药物浓度的增加,HepG₂/ADM 细胞数量减少,体积变小,细胞皱缩突起减少,细胞间连接减少,贴壁不牢固,形态学变化与 MTT 结果相符。

阿霉素 (Adriamycin, ADM),也称多柔比星 (Doxorubicin, Dox),是蒽环类家族成员,具有细胞毒性,临床多作为肝癌及其他肿瘤的一线化疗药。阿霉素穿过细胞膜在细胞内聚集能够自发红色荧光,这一特点便于观察药物在细胞内的蓄积情况^[28]。荧光显微镜下观察显示,与 HepG₂ 和 HepG₂/ADM 细胞相比,华蟾素处理后的 HepG₂/ADM 细胞,胞质中红色荧光明显增强增多,表明 ADM 在 HepG₂/ADM 细胞中含量增加,外排减少, HepG₂/ADM 对 ADM 的敏感性增强。

肿瘤细胞对化疗药物产生多药耐药的原因和机制复杂,主要与影响凋亡调控的相关蛋白表达、药物靶点基因突变、酶系统活跃、自噬诱导、ABC 转运蛋白的高表达等多种因素有关^[11]。凋亡蛋白

的异常调控是肿瘤细胞产生多药耐药的重要原因^[29]。多数化疗药物能够通过诱导肝癌细胞凋亡发挥抑瘤作用。线粒体不仅是细胞凋亡的触发开关、细胞死亡的直接通路,也与肿瘤多药耐药间存在密切关系^[26,30]。Western blot 实验结果显示,经华蟾素处理后, HepG₂/ADM 细胞中 Bax、Caspase-9 及 Caspase-3 蛋白表达水平可显著上调, Bcl-2 蛋白表达水平显著下调,表明华蟾素可以通过激活 HepG₂/ADM 线粒体凋亡途径促进细胞凋亡,抑制 HepG₂/ADM 细胞增殖。

综上所述,华蟾素对肝癌耐药细胞具有增殖抑制作用,可以通过增加阿霉素在细胞内蓄积增加、促进耐药细胞凋亡等方式发挥抗耐药作用。在后续研究中,我们也将对华蟾素联合化疗药物应用的疗效进行深入的在体和离体实验研究,为华蟾素在肝癌治疗的临床应用提供新的理论基础和实验依据。

参考文献

[1] Sung H, Ferlay J, Siegel, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries [J]. CA-CANCER J CLIN, 2021, 71 (3): 209-249.

[2] Song T, Lang M, Ren S, et al. The past, present and future of conversion therapy for liver cancer [J]. Am J Cancer Res, 2021, 11 (10): 4711-4724.

[3] 陈建国, 张永辉, 陆建华, 等. 中国肝癌预防与筛检工作实践及防控挑战 [J]. 中国肿瘤, 2023, 32 (11): 836-847.

[4] 余云霞, 夏嘉文, 熊友香. 中药逆转肝癌多药耐药机制的研究进展 [J]. 上海中医药杂志, 2019, 53 (8): 92-97.

[5] Vaidya FU, Sufiyan Chhipa A, Mishra V, et al. Molecular and cellular paradigms of multidrug resistance in cancer [J]. Cancer Rep (Hoboken), 2022, 5 (12): e1291.

[6] Zhang L, Ye BW, Chen Z, et al. Progress in the studies on the molecular mechanisms associated with multidrug resistance in cancers [J]. Acta Pharmaceutica Sinica B, 2023, 13 (3): 982-997.

[7] Emran TB, Shahriar A, Mahmud AR, et al. Multidrug resistance in cancer: understanding molecular mechanisms, immunoprevention and therapeutic approaches [J]. Frontiers in Oncology, 2022, 12: 891652.

[8] Lei ZN, Tian Q, Teng QX, et al. Understanding and target-

- ting resistance mechanisms in cancer [J]. MedComm, 2023,4(3):e265.
- [9] 汤嵩,江啸,王翔,等. 原发性肝癌多药耐药相关机制的研究进展[J]. 中国肿瘤临床与康复,2018,25(8):1020-1024.
- [10] Baguley, BC. Multiple drug resistance mechanisms in cancer[J]. MOL BIOTECHNOL,2010,46(3):308-306.
- [11] 高洁,贾翌江,阿依江,等. 肿瘤多药耐药机制及逆转耐药研究进展[J]. 现代肿瘤医学,2022,30(21):3991-3995.
- [12] 王琛,白桦,肖慧,等. 华蟾素胶囊联合 α 干扰素对原发性小肝癌患者术后免疫功能和远期预后的影响[J]. 世界临床药物,2022,43(5):554-558,564.
- [13] 徐晓华,吴煜,穆康军,等. 华蟾素注射液联合肝动脉化疗栓塞治疗肝癌的系统评价再评价[J]. 中国中医药信息杂志,2022,29(4):27-33.
- [14] Fanghua Q, Jinjing W, Lim Z, et al. Cinobufacini inhibits epithelial-mesenchymal transition of human hepatocellular carcinoma cells through c-Met/ERK signaling pathway [J]. BIOSCI TRENDS. 2018,12(3):291-297.
- [15] Xia, J, Inagaki, Y, Gao, J, et al. Combination of Cinobufacini and Doxorubicin Increases Apoptosis of Hepatocellular Carcinoma Cells through the Fas- and Mitochondria-Mediated Pathways[J]. AM J CHINESE MED. 2017,45(7):1537-1556.
- [16] 李朝阳. 华蟾素胶囊联合 PC 化疗方案治疗晚期非鳞状非小细胞肺癌患者的效果[J]. 中国民康医学, 2023,35(6):32-35,39.
- [17] 武伟龙. 华蟾素注射液联合长春瑞滨+顺铂化疗方案治疗晚期非小细胞肺癌的疗效[J]. 慢性病学杂志, 2022,23(11):1718-1720,1723.
- [18] 徐泳,韩迪,冯凡超,等. 华蟾素注射液联合含铂一线化疗方案治疗非小细胞肺癌的 Meta 分析[J]. 中国中药杂志,2019,44(21):4728-4737.
- [19] 于恒旺. 华蟾素胶囊联合吡柔比星治疗晚期乳腺癌的临床观察[J]. 中国社区医师,2022,38(6):37-39.
- [20] 焦阳. 华蟾素胶囊联合 GP 化疗方案治疗晚期乳腺癌的效果观察[J]. 临床医学,2021,41(11):113-115.
- [21] 肖聪,张懿敏,孙圣荣. 华蟾素联用顺铂对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞活力、凋亡及周期分布的影响[J]. 中国医药导报,2019,16(21):12-16.
- [22] 孔冰,左明荣,刘艳辉. 华蟾素抗胶质瘤的作用及机制研究[J]. 四川大学学报(医学版),2018,49(3):388-393.
- [23] Efuet, ET, Ding, et al. Huachansu mediates cell death in non-Hodgkin's lymphoma by induction of caspase-3 and inhibition of MAP kinase [J]. INT J ONCOL, 2015, 47(2):592-600.
- [24] 叶映泉,李庆林,朱耀东,等. 华蟾素抗肿瘤作用机制研究进展[J]. 中药药理与临床,2022,38(3):215-221.
- [25] 李俊杰,邬海峰,张东明,等. 华蟾素体外抑制胆囊癌 GBC-SD 细胞增殖与侵袭的机制研究[J]. 中国当代医药,2021,28(31):27-32,241.
- [26] 王旭. GCS 参与调控维拉帕米逆转胃癌化疗多药耐药的作用研究[D]. 济南:山东大学,2021.
- [27] 崔羲和,曾蕊,臧远龙,等. 瑞香狼毒提取物抗乳腺癌 MCF-7 细胞多药耐药的研究[J/OL]. 中国中药杂志: 1-9[2023-04-02].
- [28] 李彩琳,吕鸿,张鸿翰,等. 美洲大蠊多肽逆转人肝癌 HepG₂/ADM 细胞多药耐药性的作用及机制研究[J]. 中草药,2021,52(1):152-159.
- [29] 孟晓燕,方凡夫,顾伟. 细胞凋亡与肝癌多药耐药的研究进展[J]. 现代肿瘤医学,2009,17(7):1354-1356.
- [30] Li, M, Yu, et al. Bufalin exerts antitumor effects by inducing cell cycle arrest and triggering apoptosis in pancreatic cancer cells [J]. TUMOR BIOL, 2013, 35(3):2461-2471.

(修回日期:2023-09-01 编辑:蒲瑞生)